

①9 BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENTAMT

⑫ Offenlegungsschrift  
⑪ DE 36 05 695 A 1

⑳ Aktenzeichen: P 36 05 695.2  
㉑ Anmeldetag: 21. 2. 86  
㉒ Offenlegungstag: 11. 9. 86

⑥ Int. Cl. 4:  
G 01 N 33/543

G 01 N 33/549  
G 01 N 33/68  
G 01 N 33/82  
G 01 N 33/52  
G 01 N 33/563  
G 01 N 35/02

DE 3605695 A1

⑥ // G01N 33/574;C07K 17/02

③0 Unionspriorität: ③2 ③3 ③1  
22.02.85 JP 34,028/85

㉔ Anmelder:  
Olympus Optical Co., Ltd., Tokio/Tokyo, JP

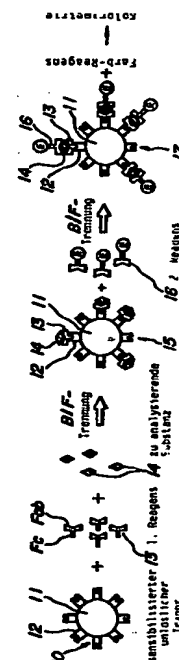
㉕ Vertreter:  
Wuesthoff, F., Dr.-Ing.; Frhr. von Pechmann, E.,  
Dipl.-Chem. Dr.rer.nat.; Behrens, D., Dr.-Ing.; Goetz,  
R., Dipl.-Ing. Dipl.-Wirtsch.-Ing.; Hellfeld von, A.,  
Dipl.-Phys. Dr.rer.nat., Pat.-Anw., 8000 München

㉖ Erfinder:  
Yamada, Takashi, Sagamihara, Kanagawa, JP

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

⑤4 Verfahren und Vorrichtung zur immunologischen Analyse

Bei einem Verfahren zum Analysieren unterschiedlicher Substanzen in einer Probe werden eine einzige Art eines sensibilisierten, unlöslichen Trägers (10), ein erstes Antikörper-Reagens mit Fc-Fragmenten, welche eine spezifische Bindung mit einer auf dem Träger fixierten Substanz eingehen, und mit Fab-Fragmenten, welche eine spezifische Bindung mit der zu untersuchenden Proben-Substanz eingehen, sowie die Probe in ein Reaktionsgefäß eingegeben, um eine immunologische Reaktion auszuführen, bei der ein erster zusammengesetzter Träger gebildet wird, der aus dem Träger (11), dem ersten Antikörper-Reagens und der Proben-Substanz besteht. Der zusammengesetzte Träger reagiert mit einem zweiten Antikörper-Reagens, das ein markierendes Enzym aufweist, um einen zweiten zusammengesetzten Träger zu bilden, der aus dem ersten zusammengesetzten Träger und dem zweiten Antikörper-Reagens besteht, welches mit der Proben-Substanz auf dem ersten zusammengesetzten Träger eine Bindung eingeht. Die Menge des an den zweiten zusammengesetzten Träger gebundenen Enzyms wird als ein Maß für die Menge der Proben-Substanz gemessen.



DE 3605695 A1

PATENTANWÄLTE  
WUESTHOFF-v. PECHMANN-BEHRENS-GOETZ  
EUROPEAN PATENT ATTORNEYS

3605695

OLYMPUS OPTICAL CO. LTD.  
1A-60 143

DR.-ING. FRANZ WUESTHOFF  
DR. PHIL. FREDA WUESTHOFF (1927-1956)  
DIPLOM.-ING. GERHARD PULS (1952-1971)  
DIPLOM.-CHEM. DR. E. FREIHEIT VON PECHMANN  
DR.-ING. DIETER BEHRENS  
DIPLOM.-ING. DIPLOM.-WIRTSCH.-ING. RUPERT GOETZ  
DIPLOM.-PHYS. DR. AXEL VON HELLFELD

D-8000 MÜNCHEN 90  
SCHWEIGERSTRASSE 2

TELEFON: (089) 66 20 51  
TELEGRAMM: PROTECTPATENT  
TELEX: 5 24 070  
TELEFAX: (089) 66 39 36 (III)

P a t e n t a n s p r ü c h e :

1. Verfahren zum Analysieren von in Proben enthaltenen Substanzen mittels einer immunologischen Reaktion unter Verwendung eines sensibilisierten, unlöslichen Trägers, dadurch gekennzeichnet, daß der sensibilisierte, unlösliche Träger mit der Proben-Substanz mittels eines Reagenzes eine Bindung eingeht, wobei das Reagenz aus einer bindenden Komponente gebildet ist.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die bindende Komponente des Reagenzes durch Antikörper gebildet wird, die jeweils ein Fragment aufweisen, welches eine spezifische Bindung mit dem sensibilisierten, unlöslichen Träger eingeht sowie ein Fragment, welches eine spezifische Bindung mit der Proben-Substanz eingeht.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die bindende Komponente des Reagenzes dadurch gebildet wird, daß ein elementares Antikörper-Konjugat aus einem bindenden Element und Antikörper mit Fc-Fragmenten, die mit dem bindenden Element verbunden sind, sowie Fab-Fragmente, welche eine spezifische Bindung mit der Proben-Substanz eingehen, gebunden werden.

3605695

4. Verfahren nach Anspruch 1,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß die bindende Komponente des Reagenzes dadurch gebildet  
wird, daß ein elementares Fab-Fragment-Konjugat aus Fab-Frag-  
ment und einem bindenden Element gebunden werden, welches an  
das Fab-Fragment fixiert ist.

5. Verfahren zum Analysieren einer in einer Probe enthal-  
tenen Substanz mittels einer immunologischen Reaktion unter  
Verwendung eines sensibilisierten, unlöslichen Trägers,  
gekennzeichnet durch folgende Schritte:

- der sensibilisierte, unlösliche Träger, eine Probe und ein  
erstes Reagenz werden in ein Reaktionsgefäß eingegeben;
- eine immunologische Reaktion wird im Reaktionsgefäß ausge-  
führt, um einen ersten zusammengesetzten Träger zu bilden,  
der aus dem sensibilisierten, unlöslichen Träger, einem an  
diesen gebundenen ersten Reagenz und einer Proben-Substanz  
besteht, die an das erste Reagenz gebunden ist;
- es wird eine B/F-Trennung durch Waschung des Reaktionsgefäßes  
ausgeführt;
- es wird ein zweites Antikörper-Reagenz mit einer daran gebun-  
denen markierenden Substanz in das Reaktionsgefäß eingegeben;
- es wird eine immunologische Reaktion im Reaktionsgefäß durch-  
geführt, um einen zweiten zusammengesetzten Träger zu bilden,  
der aus dem ersten zusammengesetzten Träger und dem zweiten  
Antikörper-Reagenz besteht, welches eine Bindung mit der  
Proben-Substanz auf dem ersten zusammengesetzten Träger ein-  
geht;
- es wird eine B/F-Trennung durch Waschung des Reaktionsgefäßes  
ausgeführt; und
- es wird die Menge der Proben-Substanz dadurch festgestellt,  
daß die Menge der markierenden Substanz des zweiten Antikör-  
per-Reagenzes auf dem zweiten zusammengesetzten Träger  
gemessen wird.

3605695

6. Verfahren nach Anspruch 5,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß das zweite Antikörper-Reagenz durch Antikörper gebildet  
ist, welche ein Enzym als markierende Substanz aufweisen, das  
daran gebunden ist, wobei der Meß-Schritt (letzter Schritt des  
Anspruches 5) folgende Teilschritte aufweist:
- ein Farb-Reagenz wird in das Reaktionsgefäß eingegeben;
  - zwischen dem Enzym auf dem zweiten zusammengesetzten Träger  
und dem Farbreagens wird eine Reaktion durchgeführt, um eine  
gefärbte Reaktionsflüssigkeit zu erhalten; und
  - die gefärbte Reaktionsflüssigkeit wird kolorimetrisch ver-  
messen.
7. Verfahren nach Anspruch 5,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß beim Eingeben des sensibilisierten, unlöslichen Trägers,  
der Probe und des ersten Reagenzes in das Reaktionsgefäß  
folgende Einzelschritte durchgeführt werden:
- die sensibilisierten unlöslichen Träger werden in ein Reak-  
tionsgefäß eingegeben;
  - das erste Reagenz wird in das Reaktionsgefäß eingegeben; und
  - die Proben-Substanz wird in das Reaktionsgefäß eingegeben.
8. Verfahren nach Anspruch 5,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß das erste Reagenz durch einen Antikörper gebildet ist, wel-  
cher Fab-Fragmente aufweist, die eine spezifische Bindung mit  
der Proben-Substanz eingehen, sowie Fc-Fragmente, welche eine  
spezifische Bindung mit dem sensibilisierten, unlöslichen  
Träger eingehen.
9. Verfahren nach Anspruch 8,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß der sensibilisierte, unlösliche Träger durch eine unlösli-  
che Perle gebildet ist sowie auf deren Oberfläche fixierte  
Antikörper, wobei die Antikörper eine spezifische Bindung mit  
den FC-Fragmenten des Antikörpers des ersten Reagenzes eingehen.

3605695

10. Verfahren nach Anspruch 9,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß die unlösliche Perle aus Glas besteht.

11. Verfahren nach Anspruch 9,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß die unlösliche Perle aus einem synthetischen Harz besteht.

12. Verfahren nach Anspruch 8,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß der Antikörper des ersten Reagenzes aus Immun-Globulin  
gebildet ist.

13. Verfahren nach Anspruch 12,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß der Antikörper des ersten Reagenzes aus Immun-Globulin-G  
(Ig-G) gebildet ist.

14. Verfahren nach Anspruch 13,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß der sensibilisierte, unlösliche Träger durch eine unlösli-  
che Perle und Immun-Globulin-G gebildet ist, welches auf der  
unlöslichen Perle fixiert ist.

15. Verfahren nach Anspruch 13,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß der sensibilisierte, unlösliche Träger durch eine unlösli-  
che Perle und Protein A gebildet ist, welches auf der unlösli-  
chen Perle fixiert ist.

16. Verfahren nach Anspruch 5,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß der sensibilisierte, unlösliche Träger durch einen unlösli-  
chen Träger und Liganden gebildet ist, welche auf der Oberflä-  
che des unlöslichen Trägers fixiert sind, und daß das erste  
Reagenz dadurch gebildet wird, daß elementares Antikörper-

3605695

Konjugat aus Antikörpern mit Fc- und Fab-Fragmenten und einem bindenden Element, welches an die Fc-Fragmente des Antikörpers gebunden ist, gebunden werden.

17. Verfahren nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß der sensibilisierte, unlösliche Träger durch einen unlöslichen Träger und Liganden gebildet wird, welche auf der Oberfläche des unlöslichen Trägers fixiert sind, und daß das erste Reagenz dadurch gebildet wird, daß ein elementares Fab-Fragment aus einem Fab-Fragment und einem bindenden Element, welches an das Fab-Fragment fixiert ist, gebunden werden.
18. Verfahren nach einem der Ansprüche 16 oder 17, dadurch gekennzeichnet, daß der Ligand durch Avidin und das bindende Element durch Biotin gebildet sind.
19. Verfahren nach Anspruch 5 zum Analysieren einer Vielzahl von Proben-Substanzen unterschiedlicher Art, dadurch gekennzeichnet, daß eine Vielzahl von ersten Reagenzien präpariert werden, von denen jede selektiv mit einer bestimmten Proben-Substanz reagiert und alle gemeinsam mit dem sensibilisierten, unlöslichen Träger reagieren, und daß der sensibilisierte, unlösliche Träger, eine Probe und ein erstes Reagenz, welches eine spezifische Bindung mit der Proben-Substanz in der zu analysierenden Probe eingeht, in das Reaktionsgefäß eingegeben werden.
20. Verfahren nach Anspruch 19, dadurch gekennzeichnet, daß eine Vielzahl von zweiten Antikörper-Reagenzien präpariert werden, von denen jede eine selektive Reaktion mit einer bestimmten Proben-Substanz ausführt, und daß ein zweites, ausgewähltes Antikörper-Reagenz in das Reaktionsgefäß eingegeben wird, welches eine spezifische Bindung mit der zu untersuchenden Proben-Substanz eingeht.

3605695

21. Vorrichtung zum Analysieren einer Vielzahl von Substanzen in einer Probe mittels einer immunologischen Reaktion unter Verwendung eines sensibilisierten, unlöslichen Trägers, gekennzeichnet durch

- eine Einrichtung zum Bewegen einer Vielzahl von Reaktionsgefäßen (20) entlang einer Reaktionsreihe;
- eine Einrichtung (31) zum Eingeben von sensibilisierten, unlöslichen Trägern (10) in die Reaktionsgefäße;
- eine Einrichtung (25) um selektiv in die Reaktionsgefäße (20) ein erstes Reagenz aus einer Vielzahl von Reagenzien einzuführen, welche jeweils eine spezifische Reaktion mit den einzelnen zu analysierenden Proben-Substanzen eingehen;
- eine Einrichtung (22) zum Eingeben einer gegebenen Menge einer Probe in das Reaktionsgefäß (20);
- eine Einrichtung (34) zum Waschen der Reaktionsgefäße und zur Durchführung einer B/F-Trennung;
- eine Einrichtung (27) zum wahlweisen Zuführen eines zweiten Antikörper-Reagenzes aus einer Vielzahl von zweiten Antikörper-Reagenzien in das Reaktionsgefäß, wobei die zweiten Antikörper-Reagenzien jeweils eine spezifische Reaktion mit den einzelnen zu analysierenden Proben-Substanzen ausführen;
- Einrichtungen (30) zum Zuführen eines dritten Reagenzes in das Reaktionsgefäß, wobei das dritte Reagenz eine markierende Substanz aufweist; und
- eine Einrichtung (32) zum Messen der Menge der Proben-Substanz mit Hilfe der markierenden Substanz.

22. Vorrichtung nach Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, daß die Einrichtungen zum Transportieren der Reaktionsgefäße (20) entlang der Reaktionsreihe einen Drehtisch (21) aufweisen, der intermittierend drehbar ist, und daß weiterhin Einrichtungen (33) zum Entfernen des sensibilisierten, unlöslichen Trägers aus dem Reaktionsgefäß vorgesehen sind.

23. Vorrichtung nach Anspruch 21,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß die Einrichtungen (30) zum Zuführen des dritten Reagenzes  
ein Farb-Reagenz in das Reaktionsgefäß (20) zugeben und daß die  
Meßeinrichtung (32) ein Kolorimeter (32) aufweist sowie eine  
Vorrichtung (32a) zum Überführen einer Flüssigkeit aus dem  
Reaktionsgefäß (20) in das Kolorimeter (32).

24. Vorrichtung nach Anspruch 21,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß die Einrichtung (25) zum Zufügen des ersten Reagenzes eine  
Vielzahl von Reagenz-Gefäßen (26-1, ..., 26-n) aufweist, welche  
jeweils ein bestimmtes erstes Reagenz aufweisen, sowie eine ge-  
meinsame Pumpe (25) zum wahlweisen Ansaugen eines ersten Rea-  
genzes, um dieses in das Reaktionsgefäß (20) einzugeben.



3605695

OLYMPUS OPTICAL CO. LTD.  
1A-60 143

FR.-ING. HANS WUESTHOFF  
DR. PHIL. FREDA WUESTHOFF (1927-1956)  
DIPL.-ING. GERHARD PULS (1952-1971)  
DIPL.-CHEM. DR. E. FREIHERR VON PECHMANN  
DR.-ING. DIETER BEHRENS  
DIPL.-ING. DIPL.-WIRTSCH.-ING. RUPERT GOETZ  
DIPL.-PHYS. DR. AXEL VON HELLFELD

D-8000 MÜNCHEN 90  
SCHWEIGERSTRASSE 2

TELEFON: (089) 66 20 51  
TELEGRAMM: PROTECPATENT  
TELEX: 524 070  
TELEFAX: (089) 66 39 36 (III)

### Verfahren und Vorrichtung zur immunologischen Analyse

Die Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Durchführung der immunologischen Analyse, insbesondere zur Analyse einer Vielzahl von zu prüfenden Proben.

W Für die immunologische Analyse sind unterschiedliche Verfahren vorgeschlagen worden. Beispielsweise wird in der DE-OS 34 02 304 ein immunologisches Analyseverfahren beschrieben, bei dem ein sensibilisierter, unlöslicher Träger benutzt wird. Bei diesem bekannten Verfahren wird ein unlöslicher Träger aus Glas oder eine Perle aus synthetischem Harz dadurch sensibilisiert, daß er bzw. sie mit Antikörpern beschichtet wird, welche eine spezifische Reaktion mit den Antigenen ausführen, die in der zu untersuchenden Probe enthalten sind. Ein sensibilisierter, unlöslicher Träger wird zusammen mit der Probe in ein Reaktionsgefäß gegeben, um die Antigen/Antikörper-Reaktion durchzuführen. Sodann werden die Proben-Antigene an die Antikörper gebunden, welche am unlöslichen Träger festhaften. Danach wird ein Markierungsenzym hinzugefügt, welches mit dem Proben-Antigen auf dem Träger eine Bindung eingeht. Schließlich wird ein Farb-reagens hinzugegeben, welches selektiv mit dem markierenden Enzym reagiert. Die derart gewonnene Reaktionsflüssigkeit wird kolorimetrisch vermessen, um die Menge der Proben-Antigene zu ermitteln.

. 9.

Da bei dem bekannten Verfahren ein sensibilisierter, unlöslicher Träger benutzt wird, der eine spezifische Reaktion mit dem Proben-Antigen ausführt, ist es bei der Analyse einer Vielzahl von Prüfposten, d.h. einer Vielzahl von Antigenen unterschiedlicher Art in Proben, erforderlich, eine Vielzahl von sensibilisierten, unlöslichen Trägern unterschiedlicher Art zu präparieren. Mit anderen Worten: Um eine Vielfach-Analyse durchzuführen, ist es erforderlich, unterschiedliche Arten von Trägern dadurch herzustellen, daß sie mit unterschiedlichen Arten von Antikörpern beschichtet werden, welche spezifische Bindungen mit den Proben-Antigenen eingehen, die untersucht werden sollen. Es versteht sich, daß die Präparation einer Vielzahl von sensibilisierten unlöslichen Trägern unterschiedlicher Art einen aufwendigen Betrieb erfordert und die Kosten der Analyse erhöht. Darüberhinaus ist es erforderlich, eine Vorrichtung zur Durchführung eines solchen Verfahrens mit einem relativ großen Speicherraum für sensibilisierte Träger unterschiedlicher Art bereitzustellen, wobei die unterschiedlichen Träger getrennt voneinander aufbewahrt werden müssen. Auch wäre es erforderlich, eine Einrichtung bereitzustellen, mit welcher selektiv sensibilisierte Träger in Reaktionsgefäße entsprechend der zu analysierenden Probe eingegeben werden können. Dementsprechend wird die gesamte Vorrichtung sehr voluminös, kompliziert in ihrem Aufbau und teuer. Hinzu kommt, daß bei der Verwendung von sensibilisierten Trägern mit Beschichtungen aus unterschiedlichen Antikörpern Verwechslungen auftreten können, da die sensibilisierten Träger sich hinsichtlich ihres Erscheinungsbildes nicht unterscheiden und vom Benutzer nicht optisch auseinandergehalten werden können.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren für die immunologische Analyse zu schaffen, welches eine einfache Präparation der sensibilisierten Träger ermöglicht, so daß die Betriebskosten bei der Analyse gesenkt werden. Auch soll mit der Erfindung eine Vorrichtung für die immunologische Analyse einer

- 3 -  
• 10 •

Vielzahl von Prüfposten bereitgestellt werden, welche kleine Abmessungen, einen einfachen Aufbau und geringe Herstellungskosten aufweist.

Ein erfindungsgemäßes Verfahren sowie eine Vorrichtung zur Lösung dieser Aufgabe sind mit ihren Ausgestaltungen in den Patentansprüchen gekennzeichnet.

Gemäß der Erfindung wird somit nur eine einzige Art eines sensibilisierten, unlöslichen Trägers für alle möglichen Proben verwendet.

Gemäß einer bevorzugten Ausgestaltung des erfindungsgemäßen Verfahrens ist bei der Analyse von in Proben enthaltenen Substanzen mittels einer immunologischen Reaktion unter Verwendung eines sensibilisierten, unlöslichen Trägers vorgesehen, daß ein sensibilisierter unlöslicher Träger, eine Probe und ein erstes Reagens in ein Reaktionsgefäß eingegeben werden; daß eine immunologische Reaktion im Reaktionsgefäß durchgeführt wird, um einen ersten, zusammengesetzten Träger zu bilden, welcher aus dem sensibilisierten unlöslichen Träger, dem ersten, an den sensibilisierten unlöslichen Träger angebundenen Reagens und einer Probensubstanz, welche mit dem ersten Reagens eine Bindung eingegangen ist, zusammengesetzt ist; daß eine B/F-Trennung (Bound/Free-Trennung; Übergang vom gebundenen in den freien Zustand) durchgeführt wird, indem das Reaktionsgefäß gewaschen wird; daß ein zweites Antikörper-Reagens in das Reaktionsgefäß eingegeben wird, wobei das zweite Antikörper-Reagens mit einer markierenden Substanz versehen ist; daß eine immunologische Reaktion im Reaktionsgefäß ausgeführt wird, um einen zweiten zusammengesetzten Träger zu bilden, welcher sich aus dem ersten zusammengesetzten Träger und dem zweiten Antikörper-Reagens zusammensetzt, welches eine Bindung mit der Probensubstanz auf dem ersten zusammengesetzten Träger eingegangen ist; daß eine B/F-Trennung durch Waschung des Reaktionsgefäßes durchgeführt wird; und daß die Menge der Probensubstanz dadurch

- A -

· 11 ·

gemessen wird, daß die Menge der markierenden Substanz des zweiten Antikörper-Reagenzes auf dem zweiten zusammengesetzten Träger ermittelt wird.

Eine Vorrichtung zur Durchführung eines derartigen Verfahrens ist insbesondere im Patentanspruch 21 gekennzeichnet.

Vorteilhafte Ausgestaltungen sind in den Unteransprüchen 22 bis 24 beschrieben.

3 Nachfolgend wird die Erfindung anhand der Zeichnung beispielhaft erläutert. Es zeigt, bzw. zeigen:

Fig. 1A, 1B und 1C schematische Darstellungen eines immunologischen Analyseverfahrens;

Fig. 2 eine schematische Darstellung einer immunologischen Analysevorrichtung;

Fig. 3 eine perspektivische Darstellung eines U-förmigen Reaktionsröhrchens, welches in der Vorrichtung gemäß Fig. 2 verwendet wird;

Fig. 4A bis 4C schematische Darstellungen des Betriebs der in Fig. 2 gezeigten Analysevorrichtung; und

Fig. 5A bis 5I den zeitlichen Ablauf des Betriebs der in Fig. 2 gezeigten Analysevorrichtung.

Die Fig. 1A, 1B und 1C illustrieren schematisch den Grundgedanken des erfindungsgemäßen immunologischen Analyseverfahrens. Unterschiedliche Arten von Substanzen in einer zu analysierenden Probe können mittels eines gemeinsamen, einzigen sensibilisierten Trägers 10 analysiert werden. Der sensibilisierte, unlösliche Träger 10 besteht aus einem unlöslichen Trägerkörper 11 aus Glas oder einer synthetischen Harzperle sowie aus Substanzen 12, welche auf der Träger-Oberfläche fixiert sind. Wie

- 5 -  
12.

weiter unten erläutert wird, können die Substanzen 12 aus Antikörpern oder Protein A oder Liganden, wie Avidin, bestehen. Es wird ein erstes Reagens 13 mit einem speziellen Aufbau eingesetzt. Grundsätzlich ist das erste Reagens 13 aus einem Antikörper, einem Biotin-Antikörper-Konjugata oder einem Biotin-Fab-Bruchteil-Konjugata gebildet, welches auf der einen Seite eine spezielle Bindung mit der sensibilisierenden Substanz 12 eingeht, welche auf dem unlöslichen Träger 11 fixiert ist und welche auf der anderen Seite eine Bindung mit Substanzen 14 eingeht, welche in der zu analysierenden Probe enthalten sind. Falls das erste Reagens aus einem Antikörper gebildet ist, so hat der das erste Reagens 13 bildende Antikörper ein kristallisierbares Fragment, das sogenannte Fc-Fragment, welches eine spezifische Reaktion mit der Substanz 12 auf dem Träger 11 ausführt sowie zwei Antigene bindende Fragmente, die sogenannten Fab-Fragmente, welche selektiv mit den zu analysierenden Substanzen 14 reagieren. Derartige Antikörper-Reagenzien können für die zu analysierenden, verschiedenen Substanzen erhalten werden. Es können unterschiedliche Arten von Immuno-Globulinen Ig-G und Ig-M als erstes Antikörper-Reagens 13 eingesetzt werden. Beispielsweise kann Immunglobulin G (Ig-G) vorteilhaft als erstes Antikörper-Reagens 13 eingesetzt werden, welches aus bestimmten Tieren gewonnen wird. In diesem Falle werden die Fab-Fragmente des Ig-G dadurch in bezug auf eine bestimmte, zu analysierende Substanz 14 sensibilisiert, daß die betroffene Substanz 14 dem Tier verabreicht wird. Auf diese Weise können unterschiedliche Arten von ersten Antikörper-Reagenzien gewonnen werden, welche selektiv auf unterschiedlichste Arten von zu untersuchenden Substanzen sensibilisiert sind. Wird ein erstes Antikörper-Reagens benutzt, welches aus Ig-G gebildet ist, so kann die am unlöslichen Träger 11 fixierte Substanz 12 ein Protein A sein, da Protein-A eine spezifische Bindung mit Ig-G bestimmter Tiere eingeht. Es ist auch festzuhalten, daß die Substanz 12 aus Ig-G gebildet sein kann, welches Fab-Fragmente aufweist, die bezüglich der Fc-Fragmente des Ig-G sensibilisiert sind, welches das erste Antikörper-Reagens bildet.

- 8 -

- 13 -

Das erste Reagens kann aus konjugierten Substanzen einschließlich bindender Bestandteile gebildet sein, wie Biotin-Antikörper-Konjugat und Biotin-Fab-Fragment-Konjugat. In diesem Falle können Liganden, wie Avidin, welches eine spezifische Bindung mit dem bindenden Bestandteil des Reagenzes eingeht, auf dem unlöslichen Träger fixiert sein.

Bei dem in Fig. 1A gezeigten immunologischen Analyseverfahren werden der sensibilisierte unlösliche Träger 10, das erste Antikörper-Reagens 13 und eine Probe, welche die zu analysierenden Substanzen 14 enthält, in ein Reaktionsgefäß eingegeben, so daß sie für eine vorgegebene Zeitspanne bei einer vorgegebenen Temperatur, wie beispielsweise 37°C, miteinander reagieren können. Bei dieser Reaktion gehen die Fc-Fragmente des ersten Antikörper-Reagenzes 13 eine spezifische Bindung mit den Substanzen 12 ein, welche auf dem Träger 11 fixiert sind. Die Substanz 14 der Probe geht eine spezifische Bindung mit den Fab-Fragmenten des ersten Antikörper-Reagenzes 13 ein. Auf diese Weise wird die zu analysierende Substanz 14 spezifisch mittels des ersten Antikörper-Reagenzes 13 an den sensibilisierten unlöslichen Träger 10 gebunden. Sodann werden die Antikörper des ersten Antikörper-Reagenzes 13 und die Substanzen 14, welche analysiert werden sollen und an den sensibilisierten unlöslichen Träger 10 gebunden sind, von freien Antikörpern des ersten Antikörper-Reagenzes 13 sowie Substanzen 14 getrennt, welche nicht an den unlöslichen Träger 10 gebunden sind. Dies erfolgt durch eine Waschung. Nach dieser B/F-Trennung (also der vorstehenden Waschung zur Entfernung der nicht gebundenen Bestandteile) wird ein zusammengesetzter Träger 15 erhalten, der zusammengesetzt ist aus dem unlöslichen Träger 11, der auf dem Träger fixierten Substanz 12, dem ersten Antikörper-Reagens 13 mit dem Fc-Fragment, welches mit der Substanz 12 verbunden ist, und der Proben-Substanz 14, welche mit den Fab-Fragmenten des ersten Antikörper-Reagenzes 13 verbunden ist. Sodann wird der zusammengesetzte Träger 15 mit einem zweiten Antikörper-Reagens 16 im Reaktionsgefäß gemischt. Das zweite Antikörper-Reagens 16

- 7 -

14.

kann durch einen Antikörper gebildet sein, der Fab-Fragmente aufweist, die eine spezifische Bindung mit den zu analysierenden Substanzen 14 eingehen, sowie Fc-Fragmente, welche eine Bindung mit der markierenden Substanz eingehen. Im bevorzugten Ausführungsbeispiel wird die markierende Substanz durch ein Enzym E gebildet. Nachdem das markierende Enzym 16 über eine vorgegebene Zeitspanne bei einer vorgegebenen Temperatur mit dem zusammengesetzten Träger 15 reagiert hat, wird wiederum eine B/F-Trennung durchgeführt, um die freien Antikörper des zweiten markierenden Reagenzes 16 und die an den zusammengesetzten Träger 15 gebundenen Antikörper zu trennen, so daß ein zweiter zusammengesetzter Träger 17 erhalten wird, der zusammengesetzt ist aus dem unlöslichen Träger 11, der auf dem Träger 11 fixierten Substanz 12, dem ersten Antikörper-Reagens 14 mit den Fc-Fragmenten, die an die Substanz 12 gebunden sind, der Proben-Substanz 14, welche an die Fab-Fragmente des ersten Antikörper-Reagenzes 13 gebunden sind, und dem zweiten Antikörper-Reagens 16, welches die Fab-Fragmente aufweist, die mit der Probensubstanz 14 verbunden sind und die Fc-Fragmente, welche mit der markierenden Substanz (z.B. einem Enzym) verbunden sind. Sodann wird der zweite zusammengesetzte Träger 17 mit einem Farb-Reagens gemischt, um eine Reaktion zwischen dem markierenden Enzym und dem Farb-Reagens durchzuführen. Die derart gewonnene Reaktionsflüssigkeit wird kolorimetrisch vermessen, um die Enzym-Aktivität des markierenden Enzyms zu ermitteln, welche ein Maß für die Menge der in der Probe enthaltenen Substanz 14 bildet, die zu analysieren ist.

Fig. 1B illustriert eine immunologische Reaktion für eine zu analysierende Substanz 14', die sich von der in Fig. 1A gezeigten Substanz 14 unterscheidet. Trotzdem ist es möglich, den gleichen sensibilisierten unlöslichen Träger 10 zu verwenden. Es ist aber erforderlich, ein anderes erstes Antikörper-Reagens 13' zu verwenden, welches Fc-Fragmente aufweist, die eine spezifische Bindung mit der Substanz 12 auf dem Träger 11 eingehen, sowie Fab-Fragmente, welche eine spezifische Bindung mit

- 8 -

- 15.

den zu untersuchenden Substanzen 14' der Probe eingehen. Weiterhin wird ein zweites Antikörper-Reagens 16' gebildet, und zwar aus Antikörpern, die Fab-Fragmente aufweisen, welche eine spezifische Reaktion mit den Proben-Substanzen 14 ausführen, und mit Fc-Fragmenten, welche eine Bindung mit markierenden Substanzen, z.B. Enzymen, eingehen. Entsprechend wird ein erster zusammengesetzter Träger 15' aus folgenden Bestandteilen gebildet: einem unlöslichen Träger 11, auf dem Träger 11 fixierten Substanzen 12, einem zweiten Antikörper-Reagens 13' mit Fc-Fragmenten, die eine Bindung mit den Substanzen 12 eingehen, und der Proben-Substanz 14', welche eine Bindung mit den Fab-Fragmenten des ersten Antikörper-Reagenzes 13' eingehen. Ein zweiter zusammengesetzter Träger 17' besteht aus dem unlöslichen Träger 11, der Substanz 12, welche auf dem Träger 11 fixiert ist, dem ersten Antikörper-Reagens 13', welches an die Substanz 12 gebunden ist, der Proben-Substanz 14', welche an das erste Antikörper-Reagens 13' gebunden ist, und dem zweiten Antikörper-Reagens 16', das Fab-Fragmente aufweist, die an die Proben-Substanz 14' gebunden sind. Auf diese Weise können unterschiedliche Arten von Proben-Substanzen mit dem gleichen sensibilisierten unlöslichen Träger 10 analysiert werden.

Fig. 1C zeigt ein weiteres Ausführungsbeispiel eines Analyse-Verfahrens, bei dem der sensibilisierte unlösliche Träger 10' aus dem unlöslichen Träger 11 und einem Liganden, wie Avidin 18, zusammengesetzt ist. Ein erstes Antikörper-Reagens 13" wird aus einem Biotin-Antikörper-Konjugat gebildet, das aus einem Antikörper, wie Ig-G und Biotin 19 besteht, welches mit dem Fc-Fragment des Antikörpers verbunden ist. Wird der sensibilisierte unlösliche Träger 10' mit dem ersten Antikörper-Reagens 13" gemischt und die Proben-Substanz 14 in das Reaktionsgefäß gegeben, so wird das Avidin 18 auf dem Träger 10' selektiv eine Bindung mit dem Biotin 19 eingehen und der Antikörper auf dem Träger 10' fixiert. Weiterhin wird die Proben-Substanz 14 eine Bindung mit dem Antikörper des ersten Reagenzes 13" eingehen, um einen zusammengesetzten Träger 15" zu bilden, der sich aus



- 8 -

- 16 -

folgenden Bestandteilen zusammensetzt: dem unlöslichen Träger 11, dem auf dem Träger fixierten Avidin 18, dem Biotin 19, welches an das Avidin 18 gebunden ist, dem Antikörper mit Fc-Fragmenten, die mit dem Biotin 19 gekoppelt sind, und der Proben-Substanz 14, die an die Fab-Fragmente des Reagens-Antikörpers gebunden sind. Die nachfolgenden Verfahrensschritte entsprechen denen der zuvor beschriebenen Ausführungsbeispiele und werden deshalb hier nicht noch einmal erläutert. Festzuhalten ist, daß bei dem vorstehenden Ausführungsbeispiel das Avidin 18 auf dem unlöslichen Träger 11 fixiert wird, um einen sensibilisierten unlöslichen Träger 10' zu bilden, wobei das Biotin 19 eine Bindung mit dem Reagens-Antikörper eingeht. Es können auch andere Kombinationen von Liganden und bindenden Elementen vorgesehen werden, wobei das bindende Element eine spezifische Bindung mit dem Liganden eingeht. Das erste Reagens kann erfindungsgemäß durch ein Biotin-Fab-Fragment-Konjugat gebildet sein, das aus einem einzelnen Fab-Fragment besteht, wobei Biotin an das Fab-Fragment gebunden ist. Nach der Erfindung kann also das erste Reagens durch unterschiedliche bindende Bestandteile gebildet werden, wie z.B. Antikörper, Biotin-Antikörper-Konjugat und Biotin-Fab-Fragment-Konjugat.

Bei den vorstehend beschriebenen Ausführungsbeispielen sind die zu untersuchenden Proben-Substanzen Antigene. Es können aber auch Antikörper sein. Sollen Antikörper analysiert werden, so wird das erste Antikörper-Reagens durch einen Antikörper gebildet, der Fc-Fragmente aufweist, die eine spezifische Bindung mit den Substanzen 12 des sensibilisierten unlöslichen Trägers 10 eingehen, sowie Fab-Fragmenten, die eine spezifische Bindung mit den Fab-Fragmenten des Proben-Antikörpers eingehen.

Bei den vorstehenden Ausführungsbeispielen wird die Analyse mit dem sogenannten "Sandwich-Verfahren" durchgeführt, bei dem das zweite Antikörper-Reagens nach der B/F-Trennung zugefügt wird. Es ist aber auch möglich, die Erfindung mit dem sogenannten

- 10 -  
17.

Vergleichsverfahren durchzuführen, bei dem das zweite Reagens zusammen mit der Proben-Substanz vor der B/F-Trennung hinzugefügt wird.

Fig. 2 zeigt eine Analysevorrichtung zur automatischen Enzym-Immuno-Analyse. Beim gezeigten Ausführungsbeispiel sind fünfundzwanzig U-förmige Röhrchen 20 vorgesehen, die jeweils einen weiten Öffnungsabschnitt 20a und einen engen Öffnungsabschnitt 20b aufweisen. Die Röhrchen 20 dienen als Reaktionsgefäße und sind in Fig. 3 im Detail gezeigt. Die U-förmigen Röhrchen 20 sind konzentrisch und mit gleichem Abstand auf einem Drehtisch 21 angeordnet. Der Drehtisch 21 rotiert intermittierend und bewegt dabei die U-förmigen Röhrchen 20 in vorgegebenen Schrittzeiten (von beispielsweise 15 sek) in Richtung des Pfeiles, wobei die U-förmigen Röhrchen ständig in den Thermostaten 35 eingetaucht sind, wie es in den Fig. 4A bis 4C gezeigt ist. Die Halte-Stationen der U-förmigen Röhrchen 20, welche mit der intermittierenden Drehung des Drehtisches 20 verbunden sind, sind durch die Bezugszeichen  $S_1$  bis  $S_{25}$  markiert. In der Halte-Station  $S_4$  wird die zu analysierende Probe aus einem Proben-Becher 24 in das U-förmige Röhrchen 20 eingegeben, wobei der Proben-Becher 24 in einer vorgegebenen Proben-Ansaug-Position des Probenbehältnisses 23 positioniert ist. Zum Übertragen der Probe ist eine Proben-Abgabeeinrichtung 22 vorgesehen. Um eine Vielzahl unterschiedlicher Analyse-Ziele für eine bestimmte Probe erreichen zu können, wird eine Probenmenge angesaugt, die ausreicht, um eine Vielzahl von Analysen durchzuführen. Die Proben-Menge wird dann in eine Vielzahl von U-förmigen Röhrchen nacheinander eingegeben. Beim gezeigten Ausführungsbeispiel enthält das Probenbehältnis 23 eine Vielzahl von Fächern 23a, die jeweils 10 Proben-Behälter 24 aufweisen. Wie in Fig. 2 gezeigt, werden die links gestapelten Fächer 23 nacheinander in die Proben-Abgabeposition bewegt, während die rechts gestapelten Fächer 23a nach oben bewegt werden. Das in der Proben-Abgabeposition angeordnete Fach 23a wird intermittierend in Richtung des Pfeiles S bewegt, und zwar synchron mit der Drehung

- 11 -

18.

des Drehtisches 21. Ist die Proben-Abgabe für alle Proben des Faches 23a beendet, so wird dieses Fach in den unteren Abschnitt des rechten Stapels des Probenbehältnisses 23 überführt, so daß das nächste Fach, welches im linken Stapel ganz unten angeordnet ist, in die Proben-Abgabeposition bewegt werden kann. Auf diese Weise können die zu vermessenden Proben nacheinander mit einem vorgegebenen Rhythmus in die Proben-Abgabestellung gebracht werden.

In der Halte-Station  $S_1$  wird ein erstes Reagens 26-1, 26-2, ..., 26-n entsprechend dem Analyse-Ziel selektiv mittels einer ersten Reagens-Zuführeinrichtung 25 in das U-förmige Röhrchen eingegeben. In der Halte-Station  $S_3$  wird ein mit einem Enzym markiertes Reagens 28-1, 28-2, ..., 28-n entsprechend dem Analyse-Ziel selektiv mittels einer zweiten Reagens-Zugabeeinrichtung 27 in das U-förmige Röhrchen 20 eingeführt. In der Halte-Station  $S_2$  wird ein Farb-Reagens 29 selektiv mittels einer dritten Reagens-Zuführeinrichtung 30 in das U-förmige Röhrchen 20 eingegeben. Mittels einer Träger-Zuführeinrichtung 31 wird ein sensibilisierter unlöslicher Träger 10 aus synthetischem Harz, wie einem Kunststoff, oder einer Glas-Perle selektiv in den Abschnitt 20a mit größerem Durchmesser des U-förmigen Röhrchens 20 eingegeben. Die Abmessungen des Trägers 10 sind so bemessen, daß er leicht in den Abschnitt 20a mit vergrößertem Durchmesser eingeführt und wieder entnommen werden kann, wobei der Träger aber nicht in den Abschnitt 20b mit engerem Durchmesser paßt. Auf der Oberfläche des Trägers 10 wurden zuvor Substanzen fixiert, welche eine spezifische Reaktion mit dem ersten Reagens ausführen. In der Halte-Station  $S_{20}$  wird eine in dem U-förmigen Röhrchen 20 enthaltene Reaktionsflüssigkeit selektiv in ein Kolorimeter 32 gesaugt und in der Halte-Station  $S_{23}$  wird der im U-förmigen Röhrchen 20 enthaltene Träger 10 selektiv mittels einer Träger-Entladeeinrichtung 30 herausgenommen. In der Halte-Station  $S_{25}$  wird eine Waschflüssigkeit, wie ein Ionen-Austauscher (Wasser), eine Puffer-Lösung für die Immuno-Analyse oder eine physiologische Kochsalz-Lösung

-19-

selektiv in das U-förmige Röhrchen 20 eingegeben und sodann wieder mittels einer Wascheinrichtung 34 entfernt, so daß eine B/F-Trennung durchgeführt und das U-förmige Röhrchen gewaschen wird.

Nachfolgend wird der Betrieb des automatischen Enzym-Immuno-Analysators gemäß Fig. 2 anhand der Fig. 4A bis 4C und 5A bis 5I erläutert.

Da bei diesem Ausführungsbeispiel das sogenannte "Sandwich-Verfahren" angewandt wird, kann die Analyse für jede Probe nach drei Drehungen des Drehtisches 21 beendet werden. Das heißt, die B/F-Trennung wird zweimal durchgeführt und die Waschung des U-förmigen Röhrchens erfolgt einmal im Verlaufe der Analyse jeder Probe. Deshalb erfolgt die Proben-Zufuhr, die Zufuhr des ersten, zweiten und dritten Reagenzes, die Träger-Zufuhr, die Träger-Entfernung und das Ansaugen in das Kolorimeter nach jeweils drei Schritten im Verlaufe der Drehung des Drehtisches 21. Da aber die Waschung dreimal im Verlaufe der Analyse jeder Probe durchgeführt wird, ist es erforderlich, die Waschung nach jeweils einem Teilschritt im Verlaufe der Drehung des Drehtisches 21 durchzuführen. Um die vorstehenden Maßnahmen durchzuführen, ist es erforderlich,  $3n+1$  oder  $3n+2$  U-förmige Röhrchen 20 auf dem Drehtisch 21 anzuordnen, wobei  $n=1, 2, 3, \dots$ . Im gezeigten Ausführungsbeispiel sind fünfundzwanzig U-förmige Röhrchen 20 vorgesehen, weshalb die Forderung  $3n+1$  durch  $n=8$  erfüllt wird.

Wie in Fig. 4A dargestellt ist, wird im Verlaufe der ersten Drehung des Drehtisches 21 zunächst ein sensibilisierter unlöslicher Träger 10 in das U-förmige Röhrchen 20 eingegeben, welches in der Halte-Station  $S_1$  positioniert ist. Der Träger wird in den Abschnitt 20A mit größerem Durchmesser eingegeben (Fig. 5C). In der Halte-Station  $S_1$  wird auch eine vorgegebene Menge eines ersten Reagenzes 26-1 mittels der ersten Reagens-Zuführ-einrichtung 25 in das U-förmige Röhrchen 20 eingegeben (Fig. 5D).

. 20 .

Nachdem das U-förmige Röhrchen 20 um drei Schritte weitergedreht worden ist, wird an der Halte-Station  $S_4$  eine vorgegebene Menge einer Probe in das U-förmige Röhrchen mittels einer Proben-Zuführeinrichtung 22 zugegeben (Fig. 5F). Sodann beginnt mit dieser Proben-Zugabe die immunologische Reaktion. Das U-förmige Röhrchen 20 erreicht die Halte-Station  $S_{25}$  nach der ersten Drehung und in dieser Station  $S_{25}$  wird mittels der Wascheinrichtung 34 das U-förmige Röhrchen 20 gewaschen, um die erste B/F-Trennung (Fig. 5B) durchzuführen. Die Figuren 5B bis 5I zeigen den Betriebsablauf, wobei die betroffene Probe schraffiert dargestellt ist.

Im Verlaufe der zweiten Drehung des Drehtisches 21 wird gemäß Fig. 4B in der Halte-Station  $S_3$  eine vorgegebene Menge eines mit einem Enzym markierten Reagenzes 28-1 in das U-förmige Röhrchen 20 mittels einer zweiten Reagens-Zuführeinrichtung 27 eingegeben, um die zweite Reaktion zu beginnen (Fig. 5F). In der letzten Halte-Station  $S_{25}$  wird während der zweiten Drehung die zweite B/F-Trennung mittels der Wascheinrichtung 34 durchgeführt (Fig. 5B).

Wie in Fig. 4C gezeigt ist, wird weiterhin im Verlaufe der dritten Drehung des Drehtisches 21 in der Halte-Station  $S_2$  eine vorgegebene Menge eines Farb-Reagenzes 29 in das U-förmige Röhrchen 20 mittels der dritten Reagens-Zuführeinrichtung 30 eingegeben, um die dritte Reaktion zu beginnen (Fig. 5G). Sodann wird in der Halte-Station  $S_{20}$  die Test-Flüssigkeit in das U-förmige Röhrchen 20 mittels einer Pumpe 32a eingesaugt, welche im Kolorimeter 32 angeordnet ist und die Flüssigkeit wird in die Strömungszelle 32b des Kolorimeters eingeführt, um die Kolorimetrische Messung mit Licht einer vorgegebenen Wellenlänge durchzuführen (Fig. 5H). Sodann wird in der Halte-Station  $S_{25}$  nach drei Dreh-Schritten der Träger 13, welcher im U-förmigen Röhrchen 20 verblieben ist, mittels der Träger-Entnahmeeinrichtung 33 entfernt (Fig. 5I). In der letzten Halte-Station  $S_{25}$  wird während der dritten Drehung das U-förmige Röhrchen 20

mittels der Wascheinrichtung 34 gewaschen und für die Analyse der nächsten Probe vorbereitet. In den Fig. 5C bis 5E ist die Zeitfolge des Betriebes für die nächste zu vermessende Probe durch Schraffur angedeutet.

Die Waschung mittels der Wascheinrichtung 34 wird so durchgeführt, daß die Waschflüssigkeit intermittierend in das U-förmige Röhrchen 20 eingegeben wird, und zwar in den Abschnitt 20a mit größerem Durchmesser. Das Waschmittel wird in der Art einer Dusche eingeführt und mittels einer Flüssigkeits-Pumpe aus dem Abschnitt 20b mit engerem Durchmesser entfernt. Wie in den Fig. 4A bis 4C gezeigt ist, weist die Wascheinrichtung 34 einen Behälter 34a für Waschflüssigkeit, eine Pumpe 34b für Waschflüssigkeit, eine Düse 34c, eine Entnahme-Pumpe 34d für Flüssigkeit und einen Behälter 34e für die Entfernung von Flüssigkeit auf. Wie in Fig. 4A gezeigt ist, weist die Träger-Zuführeinrichtung 31 einen Trichter 31a zur Aufnahme einer Vielzahl von Trägern 10 sowie eine Sperre 31b auf, so daß die Träger einzeln aus dem Trichter 31a entnommen werden können. Die Träger 10 werden im Trichter 31a bevorratet und mit einer Pufferlösung angefeuchtet. Wie in Fig. 4C gezeigt ist, wird mittels der Vorrichtung 33 zum Entfernen der Träger eine Düse 33a in den Abschnitt 20a mit erweitertem Durchmesser gesenkt, so daß durch Ansaugen der Träger 10 entfernt werden kann. Es ist auch möglich, einen Arm in den Abschnitt (des U-förmigen Röhrchens) mit vergrößertem Durchmesser zu senken, so daß der Träger mittels Fingern entfernt werden kann, die an einem Ende des Armes vorgesehen sind. Wie in Fig. 4C dargestellt ist, weist das Kolorimeter 32 eine Ansaugpumpe 32a auf, um die Prüf-Flüssigkeit aus dem U-förmigen Röhrchen 20 über dessen Öffnungsabschnitt 20b mit geringerem Durchmesser in die Strömungszelle 32b zu saugen, sowie eine Lichtquelle 32c, um einen Lichtstrahl mit einer vorgegebenen Wellenlänge zu erzeugen und einen Photodetektor 32d, der das durch die Strömungszelle 32b durchgelassene Licht empfängt. Ein wesentlicher Teil des U-förmigen Röhrchens 20 ist in eine temperierte Flüssigkeit des Thermostaten 35 eingetaucht.

Da beim beschriebenen Ausführungsbeispiel die Proben-Zugabe, die Zugabe des ersten, zweiten und dritten Reagenzes, die Träger-Zugabe und Entfernung, sowie die kolorimetrischen Messungen alle drei Schritte durchgeführt werden und die  $3 \times 8 + 1 = 25$  U-förmigen Röhrchen 20 konzentrisch auf dem Drehtisch 21 mit jeweils gleichem Zwischenabstand angeordnet sind, ändert das U-förmige Röhrchen 20 beispielsweise an der Halte-Station  $S_4$  nach jeder Drehung seine Position um einen Teilungsabstand (d.h. ändert seine Relativ-Stellung in bezug auf die Halte-Station um jeweils eine Teilungseinheit), und zwar in Drehrichtung des Drehtisches. Da entsprechendes auch für die nach jeweils drei Schritten durchgeführten Arbeitsgänge gilt, kann die Proben-Zugabe nach jeweils drei Schritten erfolgen. Auf diese Weise wird die Analyse einer Probe jeweils nach drei Teilungsschritten beendet. Deshalb ist es möglich, eine ID-Steuerung bezüglich der Probe durchzuführen und die Verarbeitung der Analyseergebnisse in gleichen Zeitspannen durchzuführen, so daß die unterschiedlichen Steuerungen sich leicht ausführen lassen. Da weiterhin eine endlose Reaktionsreihe verwendet wird und die U-förmigen Röhrchen 20 auf einer Kreisbahn geführt werden, um die Waschungen einschließlich der B/F-Trennungen mehrfach mittels einer Waschanlage 34 durchzuführen, welche an dem Reaktionsweg angeordnet ist, ist es möglich, die gesamte Vorrichtung relativ klein zu gestalten, ihr einen einfachen Aufbau zu geben und die Kosten zu senken.

Beim beschriebenen Ausführungsbeispiel wird der sensibilisierte unlösliche Träger 10 dadurch gebildet, daß Protein A auf die unlösliche synthetische Perle aufgetragen wird und das erste Reagens durch Ig-G Antikörper gebildet wird, deren Fc-Fragmente eine spezifische Reaktion mit dem Protein A eingehen. Es ist aber auch möglich, auf dem unlöslichen Träger unterschiedliche Arten von Antikörpern zu fixieren, welche spezifische Reaktionen mit unterschiedlichen Arten von Immuno-Globulinen (Ig) eingehen. Nachfolgend sind beispielhaft unterschiedliche Kombinationen von zu analysierenden Substanzen sowie erste Antikörper-Reagenzien aufgelistet.

Proben-Substanz	Erstes Antikörper-Reagens
1. bei Krebs auftretendes Antigen	
$\alpha$ -Fetoprotein (AFP)	Anti-AFP-Antikörper
karzinoembryonische Antikörper (CEA)	Anti-CEA-Antikörper
basisches Fetoprotein (BFP)	Anti-BFP-Antikörper
pankreatische oncofetale Antikörper (POA)	Anti-POA-Antikörper
$\beta$ -oncofetale Antikörper (OFA)	Anti- $\beta$ OFA-Antikörper
embryonisches Prealbumin (EPA)	Anti-EPA-Antikörper
Isoferritin	Anti-Isoferritin-Antikörper
schwangerschaftsspezifisches	
$\beta_1$ -Glykoprotein (SP1)	Anti-SP1-Antikörper
placental-spezifisches Protein PP	Anti-placental-spezifisches- Protein-PP-Antikörper
$\beta_2$ -Mikroglubin	Anti- $\beta_2$ -Mikroglobulin-Antikörper
TA-4 (Antikörper bezüglich schuppiger Zell-Karzinome)	Anti-TA4-Antikörper
2. Hormone	
Insulin	Anti-Insulin-Antikörper
$\beta$ -HCG	Anti- $\beta$ -HCG-Antikörper
ACTH	Anti-ACTH-Antikörper
Glucagon	Anti-Glucagon-Antikörper
3. Mit Infektionskrankheiten verbundene Antigene	
HBs Antigene	Anti-HBs-Antigen-Antikörper
HBs Antikörper	Anti-HBs-Antikörper-Antikörper
HBe Antikörper	Anti-HBe-Antikörper-Antikörper
HBc Antigene	Anti-HBc-Antigen-Antikörper
HBc Antikörper	Anti-HBc-Antikörper-Antikörper
AIDS Antigen	Anti-AIDS-Antigen-Antikörper
AIDS Antikörper	Anti-AIDS-Antikörper-Antikörper
ATLA Antigen	Anti-ATLA-Antigen-Antikörper
ATLA Antikörper	Anti-ATLA-Antikörper-Antikörper
Röteln-Antigene	Anti-Röteln-Antigen-Antikörper
Röteln-Antikörper	Anti-Röteln-Antikörper-Antikörper
CMV Antigen	Antigen-CMV-Antigen-Antikörper
CMV Antikörper	Anti-CMV-Antikörper-Antikörper



3605695

. 24.  
- 27 -

60 143

Bei den vorstehend beschriebenen Ausführungsbeispielen sind diejenigen Substanzen, welche spezifische Reaktionen mit dem ersten Antikörper-Reagens ausführen, auf eine unlösliche Perle aufgetragen, doch können sie auch an den Innenwänden des Reaktionsgefäßes fixiert werden.

FIG. 1A

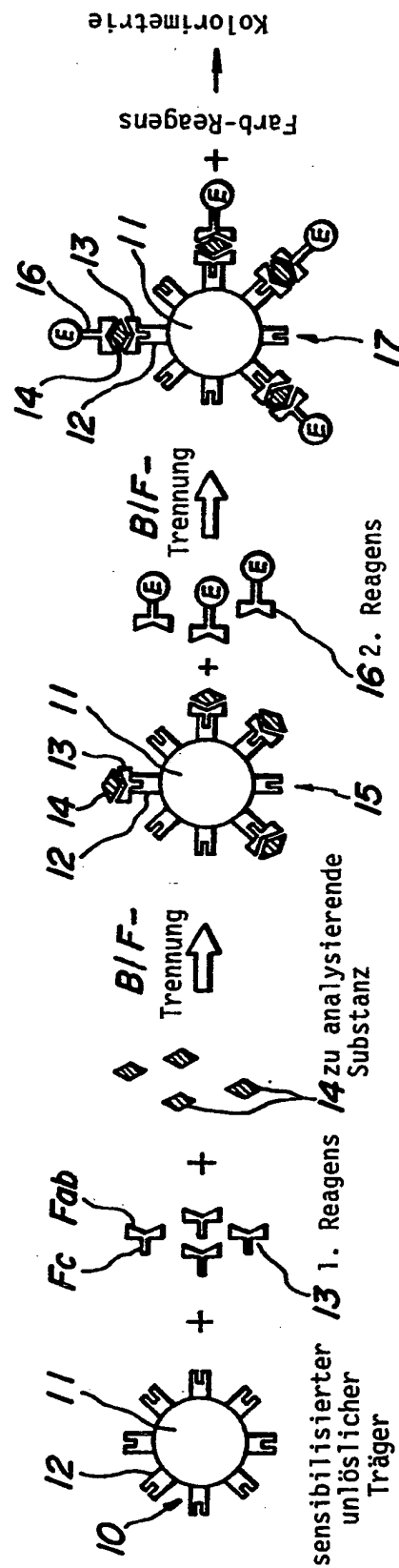


FIG. 1B

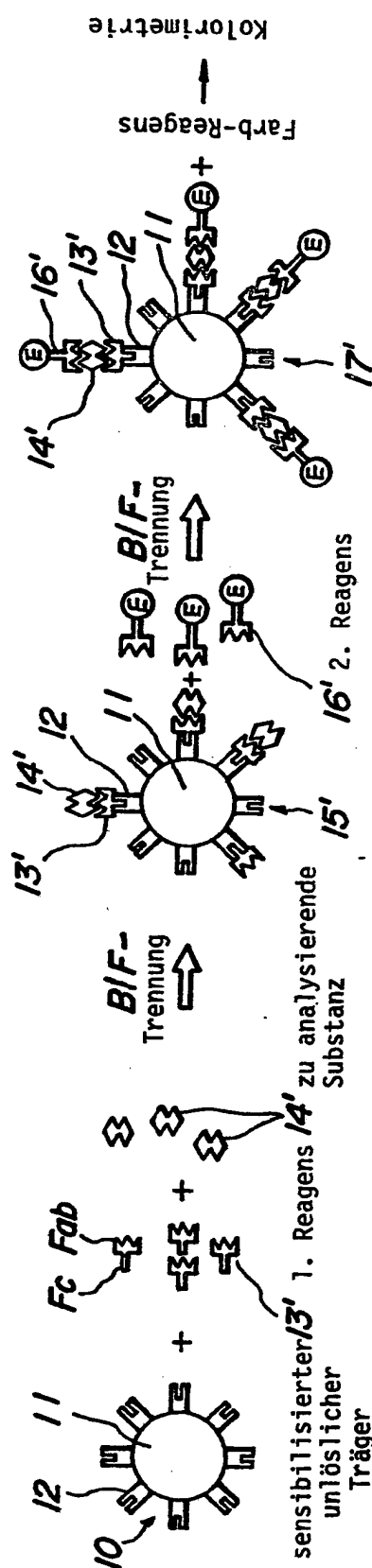
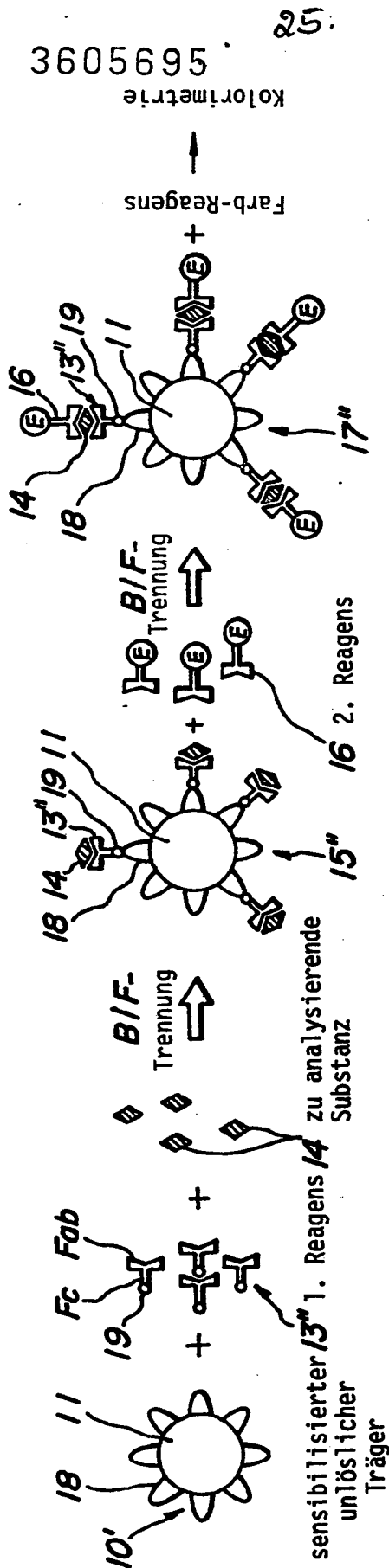


FIG. 1C

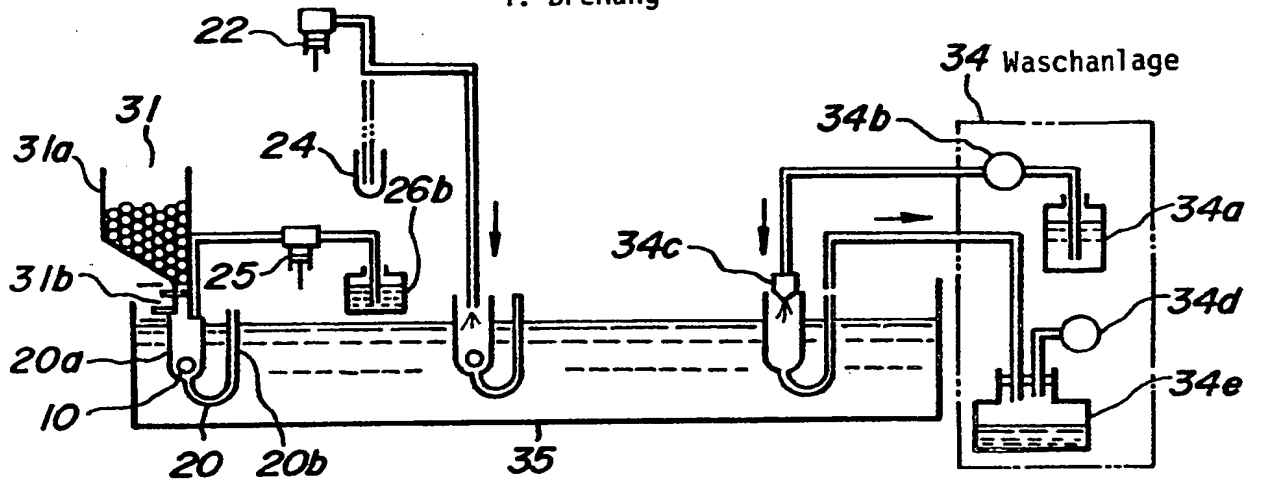


3605695



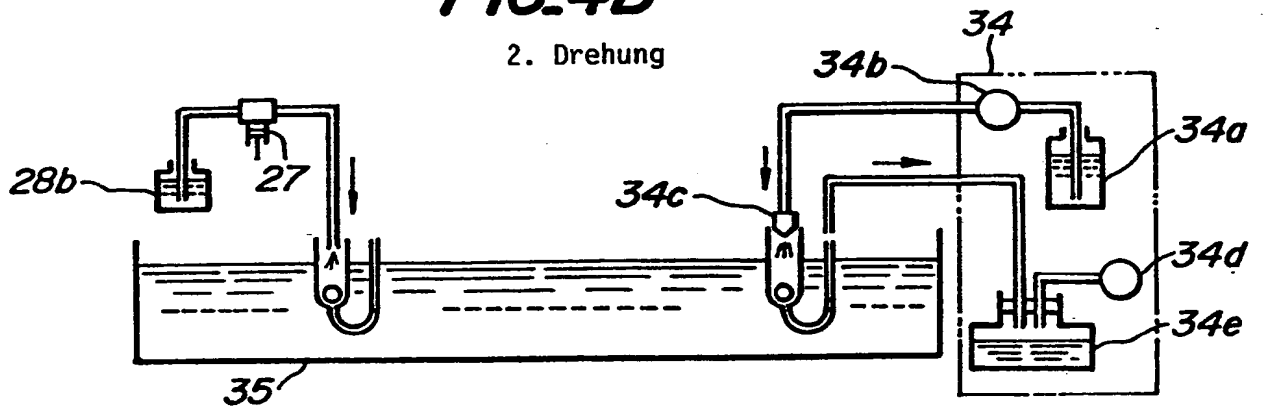
**FIG. 4A**

1. Drehung



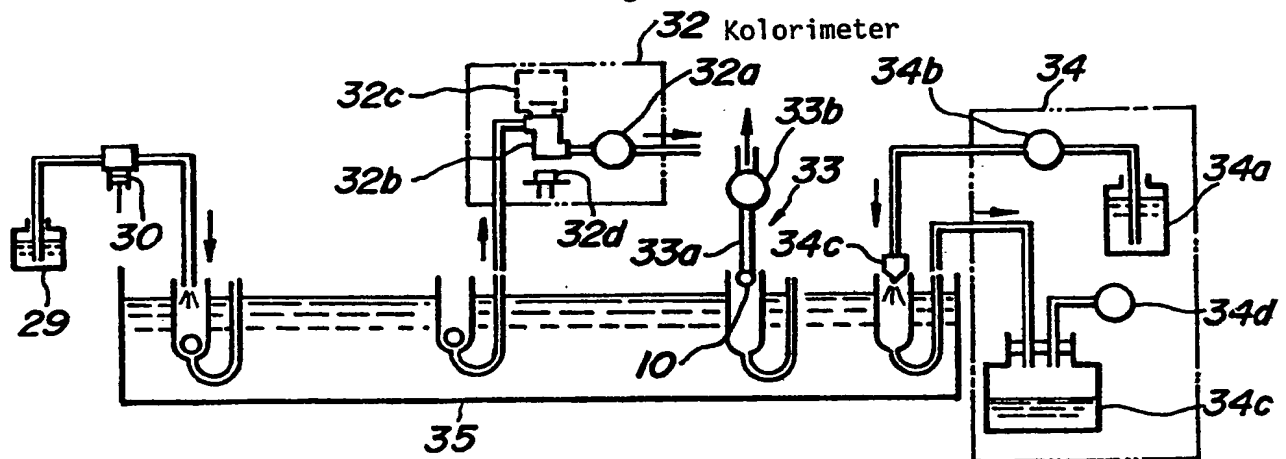
**FIG. 4B**

2. Drehung



**FIG. 4C**

3. Drehung



3605695

